

مطالعه تغییرات ساختمان شیمیایی بقایای گیاهی در خاک در اثر تجزیه میکربی بوسیله رزنانس مغناطیسی هسته کربن-۱۳

احمد گلچین

استاد یار گروه خاکشناسی دانشگاه زنجان

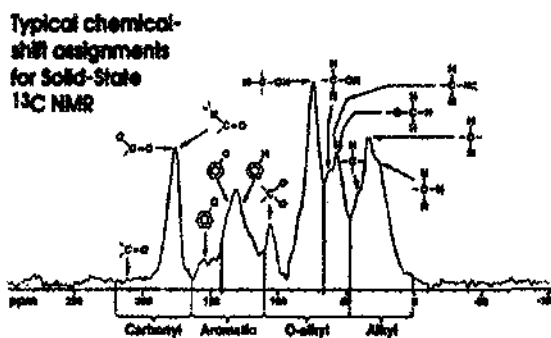
مقدمه

در طی بیست سال گذشته طیف سنجی مغناطیسی هسته کربن - ۱۳ ($^{13}\text{C NMR}$) بطور گسترده ای برای تعیین ساختمان شیمیایی مواد آلی خاک بکار گرفته شده است. در مطالعات اولیه بیشتر از NMR مایع استفاده می شد ولی وجود پاره ای مشکلات کاربرد NMR مایع را محدود می ساخت. پیشرفت فناوری و اختراع دستگاه های جامد باعث گردید که این تکنیک بعنوان یکی از قویترین ابزار در مطالعات ساختمان شیمیایی مواد آلی خاک مطرح شود. در یک طیف NMR جامد موقعیت هر هسته رزنانس کننده روی طیف را جابجایی شیمیایی (Chemical Shift) آن هسته می نامند که می تواند اطلاعاتی راجع به محیط شیمیایی آن هسته بدست دهد (شکل ۱). جابجایی شیمیایی هسته کربن - ۱۳ در یک طیف NMR جامد از ۰ تا ۲۲۰ ppm تغییر می کند که می توان آنرا به چهار منطقه تقسیم کرد (شکل ۱). هر منطقه یا هر محدوده جابجایی شیمیایی مبین وجود یک نوع کربن است و به عبارت دیگر در یک طیف NMR جامد چهار نوع کربن قابل تشخیص است. در محدوده جابجایی شیمیایی ۰ تا ۴۵ ppm کربن آلکیل (Alkyl - C)، ۴۵ تا ۱۱۰ ppm کربن آلکیل (O-alkyl-C)، ۱۱۰ تا ۱۶۵ pm کربن آروماتیک (Aromatic - C) و در محدوده جابجایی شیمیایی ۱۶۵ تا ۲۲۰ ppm کربن کربونیل (Carbonyl - C) رزنانس می کند (Baldock و همکاران ۱۹۹۲). در منطقه Alkyl - C پیک غالب معمولاً در محدوده ۳۰ تا ۳۳ ppm مشاهده می گردد که مربوط است به زنجیر های پلی متیلن ($-\text{CH}_2-$) که می تواند از چربیها و موم های گیاهی منشاء گرفته باشد. در منطقه Alkyl - C - پیک غالب معمولاً در محدوده ۶۰ تا ۹۵ ppm مشاهده می گردد که از کربوهیدراتها منشاء گرفته است. این پیک به همراه یک پیک تیز در محدوده ۱۰۵ تا ۱۱۰ ppm نشان میدهد که کربن به صورت پلی ساکاریدهای گیاهی مثل سلولز موجود است. در محدوده ۵۵ ppm معمولاً یک پیک کوچک مشاهده می گردد که اگر نوک تیز باشد مربوط است به عامل متوکسی (O - CH_3) که ممکن است از لیگنین ناشی شده باشد. اگر پیک کمی پهن باشد می تواند از ترکیبات نیتروژن دار مثل پروتئین و پپتید منشاء گرفته باشد (Skjemstad و همکاران ۱۹۸۳). در منطقه Aromatic - C پیک اصلی معمولاً در محدوده ۱۳۰ ppm مشاهده می گردد که مربوط است به حلقه های آروماتیک استخلاف نشده و یا استخلاف شده با کربن آلکیل وجود پیک در محدوده ۱۵۵ ppm نشانه حلقه های آروماتیک اکسیژن دار و کربن اشباع نشده است. محدوده جابجایی کربن حلقوی تا حد زیاد بستگی به مسیزان، موقعیت و نوع استخلاف در حلقه آروماتیک دارد. منبع کربن آروماتیک در ماده آلی و بقایای گیاهی لیگنین است که یکی از عمده ترین پلیمرهای تشکیل دهنده بافتهای گیاهی است. منطقه کربونیل که ترکیبی از گروههای کربوکسیل، استر و آمید است بصورت یک پیک تیز در محدوده ۱۶۵ تا ۲۲۰ ppm مشاهده می شود. با توجه به اینکه سطح زیر منحنی در هر منطقه مبین مقدار کربن آن منطقه است با اندازه گیری سطح زیر منحنی یک طیف NMR در محدوده جابجایی شیمیایی مختلف می توان به انواع مختلف کربن در آن طیف پی برد و به عبارت دیگر توزیع انواع مختلف کربن را تعیین نمود.

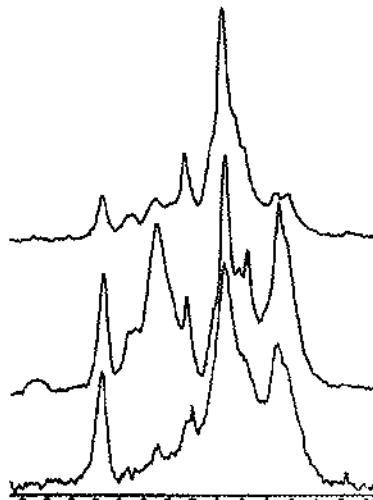
در این مقاله سعی شده است با مشخص کردن توزیع انواع کربن در بقایای گیاهی تازه، نیمه تجزیه شده و کاملاً پوسیده تغییرات شیمیایی حاصل از تجزیه میکربی را تعیین نمود.

مواد و روشها

برای جدا سازی مواد آلی تازه، نیمه تجزیه شده و کاملاً پوسیده از تکنیک جزء به جزء کردن ماده آلی با استفاده از محلولهای با دانسیته مشخص دانسیته استفاده گردید.



شکل ۱- محدوده جایجایی شیمیایی انواع کربن و تفسیر آن



شکل ۲- طیف های بدست آمده با ¹³C NMR جامد برای نمونه های ۲، ۱ و ۳ (به ترتیب بالا)



شکل ۳- توزیع انواع مختلف کربن در نمونه های مختلف

مواد آلی تازه با ریختن خاک هوا خشک در محلولی از پلی تنگستات سدیم با دانسیته ۱/۶ گرم بر سانتی متر مکعب و جمع آوری بقایای گیاهی در سطح محلول دانسیته جدا گردید. بعد از جداسازی مواد آلی تازه، مواد آلی نیمه تجزیه شده با شکستن خاکدانه ها توسط اتراسونیک و آزاد سازی مواد آلی محبوس شده داخل خاکدانه ها و ریختن خاک در محلول دانسیته بدست آمد. مواد آلی تجزیه شده که به سطح ذرات رس چسبیده بودند همراه با مواد معدنی با دانسیته بیش از ۲ گرم بر سانتی متر مکعب از مواد آلی تازه و نیمه تجزیه جدا گردید (Golchin و همکاران ۱۹۹۴). طیف ^{13}C NMR CP/MAS این نمونه ها بوسیله دستگاه NMR جامد Varian مدل ۲۰۰ بدست آمد. طیف ها به چهار محدوده جایجایی شیمیایی شامل کربن آلکیل (۰ - ۴۵ ppm) و کربن آلکیل (۴۵-۱۱۰ ppm)، کربن آروماتیک (۱۱۰-۱۶۵ ppm) و کربن کربونیل (۱۶۵ - ۱۹۰ ppm) تقسیم و سطح زیر منحنی در هر محدوده جایجایی شیمیایی بعنوان مقدار نسبی هر یک از انواع کربن اندازه گیری گردید. نمونه مورد مطالعه از لایه سطحی (۰-۱۵ سانتی متر) یک خاک که قبلاً زیر پوشش گیاهان گرامینه قرار داشت تهیه گردید.

نتیجه و بحث

محدوده جایجایی شیمیایی برای انواع مختلف کربن و تفسیر آن و همچنین طیف های بدست آمده برای نمونه های مواد آلی تازه، نیمه تجزیه شده و کاملاً پوسیده در شکل های شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. توزیع انواع مختلف کربن در نمونه ها نشان می دهد که اگر چه در کلیه نمونه های مورد بررسی هر چهار نوع کربن مشاهده می شود ولی فراوانی نسبی آنها در نمونه های مختلف متفاوت است (شکل ۳). در طیف بدست آمده برای مواد آلی تازه یک پیک بزرگ در منطقه O-alkyl - C (۴۵ تا ۱۱۰ ppm) مشاهده می گردد و نشان می دهد که بیشتر از ۶۶ درصد کربن این نمونه به صورت پلی ساکارید وجود دارد (شکل ۳). مقدار نسبی کربن آلکیل و آروماتیک در این نمونه کم (به ترتیب ۱۴ و ۱۳٪) و کربن کربونیل در حداقل مقدار وجود دارد (شکل ۳). ترکیب شیمیایی مشابهی برای مواد آلی تازه توسط Kogel و همکاران (۱۹۸۸) گزارش شده است. اطلاعات بدست آمده از NMR نشان می دهد که در نمونه حاوی مواد آلی نیمه تجزیه شده میزان O-alkyl - C یا کربوهیدراتها در مقایسه با مواد آلی تازه کاهش یافته ولی میزان کربن آلکیل و آروماتیک افزایش یافته است. (شکل ۳). افزایش کربن آلکیل و آروماتیک در نمونه ۲ نتیجه مصرف سریع کربوهیدراتها بوسیله موجودات خاک و تجمع مواد مقاوم به تجزیه شامل زنجیرهای بلند پلی متیلن و لیگنین در نمونه می باشد (Hatcher و همکاران ۱۹۸۳). البته افزوده شدن کربن آلکیل از طریق زیتوده و متابولیت های میکربی را نباید از نظر دور داشت. افزایش کربن کربونیل در نمونه نشانه افزایش گروههای عاملی و مخصوصاً عامل -COOH- در اثر اکسیداسیون میکربی است. افزایش کربن آروماتیک و کربونیل در اثر تجزیه میکربی در مقایسه با افزایش کربن آلکیل و یا کاهش کربن آلکیل ناچیز بوده و نسبت O-alkyl - C / alkyl - C می تواند معیار خوبی برای بررسی میزان پوسیدگی بقایای گیاهی باشد. این نسبت با افزایش میزان پوسیدگی کاهش می یابد. نتایج بدست آمده در این بررسی با یافته های Inbar و همکاران (۱۹۸۹) هماهنگی دارد. طیف بدست آمده برای مواد آلی کاملاً پوسیده نشان می دهد که این نوع ماده آلی که بصورت مواد کلونیدی جذب سطح ذرات رس شده است حاوی کربن آروماتیک ناچیزی است ولی از لحاظ کربوهیدرات و کربن آلکیل غنی می باشد. وجود نسبت C/N پائین در این نوع ماده آلی نشان می دهد که این نوع ماده آلی بیشتر منشأ میکربی داشته و مخلوطی از مواد مقاوم گیاهی (چربیها و موم های گیاهی)، زیتوده و متابولیت های میکربی است. با توجه به اطلاعات بدست آمده از NMR می توان تغییرات شیمیایی حاصل از تجزیه میکربی را به صورت زیر خلاصه نمود. ماده آلی موجود در خاک در معرض تجزیه میکربی واقع شده و کربوهیدراتهای موجود در آن بسرعت مورد استفاده موجودات خاک قرار گرفته و از بین می رود. این امر باعث تجمع مواد مقاوم به تجزیه مثل چربیها و موم های گیاهی و همچنین لیگنین در نمونه شده که بصورت افزایش کربن آلکیل و آروماتیک و کاهش کربن آلکیل در طیف NMR تجلی

می یابد. در مرحله بعد لیگنین هم تجزیه شده و فقط زنجیره‌های بلند پلی متیلن همراه با زیتوده و متابولیت های میکربی تولید شده باقی مانده و در اثر بر همکنش با رس نسبت به تجزیه مقاوم می شود و به این صورت مواد آلی با منشأ گیاهی در نهایت به مواد آلی با منشأ میکربی تبدیل میگردد. در حین عمل تجزیه ماده آلی تازه از شکل ذره ای خارج شده و به صورت مواد کلوئیدی در آمده و به سطح ذرات رس می چسبند.

منابع مورد استفاده

- 1 - Baldock, J. A., Oades, J. M., Waters, A. G., Peng, X., Vassallo, A.M., and Wilson, M.A. (1992). Aspects of the chemical structure of soil organic material as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *Biogeochemistry* 16 . 1-42.
- 2 - Golchin, A., Oades, J.M., Skjemstad, J. O., and Clarke, P. (1994) . Soil structure and carbon cycling. *Australian Journal of Soil Research* 32 . 1043-68.
- 3 - Kogel, I., Hempfling, R., Zech, W., Hatcher, P. G., and Schulten, H. R. (1988) . Chemical composition of the organic matter in forest soil . 1. Forest litter. *Soil Science* 146. 124-36.
- 4 - Inbar, Y. Chen, Y, and Hadar, Y (1989). Solid - state carbon - ^{13}C nuclear magnetic resonance and infra - red spectroscopy of composted organic matter . *Soil Science Society of America Journal* 53. 1693-701.
- 5 - Skjemstad, J. O., Frost, R.L., and Barron, P.F. (1983). Structural units in humic acids from south-eastern Queensland soils as determined by ^{13}C NMR spectroscopy . *Australian Journal of Soil Research* 21, 539-47.